



TGP/12/1 Draft 1

ORIGINAL: Inglés

FECHA: 15 de febrero de 2007

UNIÓN INTERNACIONAL PARA LA PROTECCIÓN DE LAS OBTENCIONES VEGETALES
GINEBRA

PROYECTO

Documento conexo
a la
Introducción General al examen de la
distinción, la homogeneidad y la estabilidad
y a la elaboración de descripciones armonizadas de las obtenciones vegetales
(documento TG/1/3)

DOCUMENTO TGP/12

“CARACTERES ESPECIALES”

Documento preparado por la Oficina de la Unión

*para su examen por el Comité Técnico en su cuadragésima tercera sesión, que se celebrará
en Ginebra del 26 al 28 de marzo de 2007*

SECCIÓN I: DESARROLLO DE CARACTERES BASADOS EN LA REACCIÓN A UN FACTOR EXTERNO.....	3
1. INTRODUCCIÓN.....	3
2. RESISTENCIA A LAS ENFERMEDADES	5
2.1 <i>Introducción</i>	5
2.2 <i>Criterios para la utilización de caracteres de resistencia a las enfermedades</i>	5
2.2.1 Resulte de un cierto genotipo o combinación de genotipos (véase el cuadro 1 a)).....	5
2.2.2 Sea suficientemente coherente y repetible en un medio determinado (véase el cuadro 1 b)).....	5
2.2.3 Sea suficientemente coherente y repetible en un medio determinado (véase el cuadro 1 c))	6
2.2.4 Pueda definirse y reconocerse con precisión (véase el cuadro 1 d)).....	6
2.2.5 Permita que se cumplan los requisitos de homogeneidad (véase el cuadro 1 e)).....	7
2.2.6 Otros aspectos que deben tenerse en cuenta.....	7
i) la disponibilidad de un inóculo fiable y de conjuntos diferenciales de huéspedes	7
ii) la regulación de la cuarentena	7
iii) los costes de los ensayos de resistencia a las enfermedades.....	7
2.2.7 Información que ha de proporcionarse en las Directrices de Examen	8
2.3 <i>Términos que describen la reacción de las plantas a las plagas, agentes patógenos o al estrés abiótico—Terminología de la resistencia a las enfermedades (Definición de los términos que describen la reacción de las plantas a plagas u otros agentes patógenos y al estrés abiótico)</i>	8
2.3.1 Preámbulo	8
2.3.2 Definiciones	8
2.3.2.1 Factores bióticos (plagas o agentes patógenos)	8
2.3.2.2 Factores abióticos (por ejemplo, productos químicos, temperatura).....	9
2.4 <i>Desarrollo de caracteres de resistencia a las enfermedades</i>	9
2.4.1 Caracteres cualitativos.....	9
2.4.2 Caracteres cuantitativos.....	10
3. RESISTENCIA A LOS INSECTOS.....	11
3.1 <i>Introducción</i>	11
3.2 <i>Ejemplo: resistencia al barrenador del maíz de variedades de maíz GM</i>	11
3.2.1 <i>Métodos</i>	11
3.2.1 <i>Verificación de la expresión del transgen: ensayo biológico</i>	12
3.2.2 <i>Verificación de la presencia del transgen</i>	12
3.2.2 <i>Protocolo del ensayo biológico para verificar la resistencia al barrenador del maíz (Ostrinia Nubilalis Hübner) de las variedades de maíz GM</i>	12
3.2.2.1 El protocolo es el siguiente:.....	12
3.2.2.2 Condiciones y observaciones:.....	13
3.2.2.3 Expresión de los resultados:	13
4. ^P REACCIÓN A TRATAMIENTOS QUÍMICOS	14
4.1 <i>Introducción</i>	14
4.2 <i>Herbicidas</i>	14
4.2.1 Variedades tolerantes a herbicidas	14
4.2.2 Estudio de caso sobre la utilización de herbicidas en la expresión de caracteres de variedades vegetales y en la evaluación de la distinción.....	14
4.3 <i>Reguladores de crecimiento de las plantas</i>	16
SECCIÓN II: COMPONENTES QUÍMICOS: ELECTROFORESIS DE PROTEÍNAS.....	18
SECCIÓN III: EXAMEN DE CARACTERES COMBINADOS MEDIANTE EL ANÁLISIS DE LA IMAGEN.....	19

SECCIÓN I: DESARROLLO DE CARACTERES BASADOS EN LA REACCIÓN A UN FACTOR EXTERNO

1. Introducción

1.1 En la Introducción General (documento TG/1/3, Capítulo 2, Sección 2.5.3) se señala que:

“La expresión de uno o varios caracteres de la variedad puede verse influenciada por factores como las plagas y las enfermedades, el tratamiento químico (por ejemplo, los retardadores del crecimiento o los pesticidas), los efectos del cultivo de tejidos, distintos portainjertos, púas de injerto extraídas de distintas fases de crecimiento de un árbol, etcétera. En algunos casos (por ejemplo, la resistencia a las enfermedades), se utiliza intencionadamente la reacción a ciertos factores como carácter en el examen DHE (véase TG 1/3, Capítulo 4, Sección 4.6.1). No obstante, cuando el factor no se destina al examen DHE, hay que velar por que su influencia no distorsione el examen DHE. En consecuencia, según las circunstancias del caso, la autoridad examinadora deberá cerciorarse de que:

- a) ninguna de las variedades objeto de examen presente esos elementos o,
- b) todas las variedades incluidas en el examen DHE, en particular, las variedades notoriamente conocidas, estén sujetas al mismo elemento y que dicho elemento tenga el mismo efecto en todas las variedades o,
- c) en los casos en que aún podría llevarse a cabo un examen satisfactorio, los caracteres afectados queden excluidos del examen DHE, salvo que pueda determinarse la expresión verdadera del carácter del genotipo de la planta, a pesar de la presencia de dicho elemento.”

1.2 En la Introducción General (documento TG/1/3, Capítulo 4, Sección 4.6.1) también se señala que “Los caracteres basados en la reacción a factores externos, como los organismos vivos (por ejemplo, los caracteres de resistencia a enfermedades) o productos químicos (por ejemplo, los caracteres de resistencia a herbicidas), podrán utilizarse siempre y cuando satisfagan los criterios que se especifican en [documento TG/1/3, Capítulo 4], Sección 4.2. Además, como es probable que dichos factores varíen, es importante que estos caracteres estén bien definidos y que se establezca un método adecuado que garantice la coherencia en el examen”. Asimismo, debe señalarse que, a pesar del hecho de que esas variedades puedan mostrar dichos rasgos, no es necesario utilizar ensayos especiales para caracteres basados en reacciones a factores externos cuando la distinción se determina mediante caracteres ordinarios.

1.3 En el cuadro 1 se muestran los requisitos básicos que debe satisfacer un carácter antes de ser utilizado en el examen DHE o para describir una variedad, junto con algunas consideraciones particulares relativas a caracteres basados en la reacción a factores externos.

1.4 En los Capítulos 2 a 4 se proporcionan directrices sobre el uso de caracteres basados en la reacción a factores externos y que tengan la forma de resistencia a las enfermedades, a los insectos y a los productos químicos. Los caracteres basados en la reacción a otro tipo de factores externos también pueden resultar adecuados en los casos en que se atengan a las consideraciones expuestas en el cuadro 1. ^a

Cuadro 1

Requisitos básicos que debe satisfacer un carácter (documento TG/1/3, Capítulo 4, Sección 4.6.1)	Consideraciones particulares en relación con caracteres basados en la reacción a factores externos
<i>Antes de ser utilizados para el examen DHE o para describir la variedad, los caracteres deben reunir varios requisitos básicos, a saber, que su expresión:</i>	
<i>a) resulte de un cierto genotipo o combinación de genotipos;</i>	es importante el conocimiento de la naturaleza del control genético de la reacción
<i>b) sea suficientemente coherente y repetible en un medio determinado;</i>	<p>i) es importante normalizar, en la medida de lo posible, las condiciones en el campo, invernadero o laboratorio, según proceda, así como la metodología utilizada;</p> <p>ii) la metodología debería ser validada, por ejemplo, mediante un <i>ring test</i>; y</p> <p>iii) los requisitos fundamentales deben fijarse en un protocolo.</p>
<i>c) muestre una variación suficiente entre variedades para poder establecer la distinción;</i>	deberían describirse la reacción y los niveles de expresión adecuados (véase d) más adelante)
<i>d) pueda definirse y reconocerse con precisión;</i>	<p>i) los factores externos deberían ser claramente definidos y caracterizados (por ejemplo, inóculo de enfermedad, tipo de hongos, patotipo de virus, biotipo de insecto, productos químicos, etc.)^b;</p> <p>ii) deberían estar claramente definidos tanto el tipo de reacción al factor externo (por ejemplo, enfermedad: susceptible / resistencia intermedia / resistencia; factores abióticos: sensible / tolerante^c, etc.)^b como los niveles pertinentes de expresión (por ejemplo, resistente o susceptible -carácter cualitativo-), o los niveles de resistencia / susceptibilidad (carácter cuantitativo o pseudo-cuantitativo).</p> <p>Por lo general, a efectos del examen DHE, la “tolerancia” no es un carácter adecuado en relación con la resistencia a las enfermedades.^d</p>
<i>e) permita que se cumplan los requisitos de homogeneidad;</i>	los requisitos de homogeneidad en caracteres basados en la reacción a factores externos son los mismos que en otros caracteres. En particular, es necesario que el método permita el examen individual de cada planta.
<i>f) permita que se cumplan los requisitos de estabilidad, es decir, que se obtengan resultados coherentes y repetibles después de cada reproducción o multiplicación o, cuando proceda, al final de cada ciclo de reproducción o multiplicación.</i>	los requisitos de estabilidad en caracteres basados en la reacción a factores externos son los mismos que en otros caracteres.

2. Resistencia a las enfermedades

2.1 Introducción

La resistencia a plagas y enfermedades es un objetivo importante en los programas de obtención, especialmente en los programas de obtención vegetal. En los casos de obtención en los que se plantean como objetivo tales resistencias, puede ser importante el uso de caracteres de resistencia a las enfermedades en el examen DHE. Estos caracteres, no obstante, plantean problemas específicos, especialmente en lo que respecta a su reconocimiento y definición precisos y a la posibilidad de garantizar la coherencia y la repetibilidad. En las siguientes secciones se abordan estos y otros requisitos que debe satisfacer un carácter.

2.2 Criterios para la utilización de caracteres de resistencia a las enfermedades

2.2.1 Al igual que ocurre con otros caracteres (véase sección 1.3: cuadro e Introducción General, capítulo 4.2.1), los requisitos básicos que debe satisfacer un carácter de resistencia a la enfermedad antes de ser utilizado en el examen DHE o de que se elabore la descripción de una variedad, son que su expresión:

- a) resulte de un cierto genotipo o combinación de genotipos;
- b) sea suficientemente coherente y repetible en un medio ambiente determinado;
- c) muestre una variación suficiente entre variedades para poder establecer la distinción;
- d) pueda definirse y reconocerse con precisión;
- e) permita que se cumplan los requisitos de homogeneidad;
- f) permita que se cumplan los requisitos de estabilidad, es decir, que se obtengan resultados coherentes y repetibles después de cada reproducción o, cuando proceda, al final de cada ciclo de reproducción.^e

En general, los requisitos que figuran en el cuadro 1^f pueden cumplirse, aunque algunos de ellos plantean problemas específicos:

2.2.1 *Resulte de un cierto genotipo o combinación de genotipos (véase el cuadro 1 a))*

La cooperación con los obtentores también permite conseguir un conocimiento más preciso de los antecedentes genéticos de las diversas formas de resistencia a las enfermedades. El conocimiento de los genes responsables de la resistencia a las enfermedades, y si ésta se debe a un solo gen o a una combinación de genes, aporta información valiosa para la observación y evaluación de la resistencia.

2.2.2 *Sea suficientemente coherente y repetible en un medio determinado (véase el cuadro 1 b))*

Las pruebas repetitivas y los *ring tests* han demostrado que la estabilidad de la resistencia a las enfermedades es muy buena, siempre que ésta se haya establecido teniendo en cuenta la raza o la cepa. De hecho, dado que la resistencia a las enfermedades tiene una importancia de primer orden en la comercialización de las variedades, constituye un criterio de selección principal de las empresas para la verificación de la estabilidad de las mismas.

2.2.3 *Sea suficientemente coherente y repetible en un medio determinado (véase el cuadro 1 c))*

Los caracteres de resistencia a las enfermedades, debidamente ensayados, permiten, por definición, una clara diferenciación entre conjuntos de variedades. Por esta razón, los caracteres de resistencia a las enfermedades se han utilizado frecuentemente como caracteres determinantes de agrupaciones. La diferenciación se hace normalmente teniendo en cuenta la raza o la cepa, ya que se sabe que muchas variedades muestran reacciones de resistencia distintas a diferentes razas o cepas de la enfermedad. También puede hacerse una agrupación a partir de la raza o la cepa siempre que razas o cepas estén debidamente identificadas. En la Sección 2.4 [ref. cruzada] se proporcionan directrices en lo que respecta al desarrollo de resistencias a enfermedades como un carácter cualitativo o cuantitativo.^g ~~Las razas o cepas de enfermedades para las que la diferencia entre susceptible y resistente no sea discontinua, sino que se observe una escala de resistencia que vaya desde ninguna a muy débil y hasta muy fuerte, constituyen un problema específico. Sin embargo, en la práctica no es aún posible definir los niveles mediante variedades ejemplo, por lo que en las directrices se indica que las enfermedades con ese comportamiento han de tratarse generalmente como discontinuas, definiendo un umbral de separación entre susceptibilidad y resistencia. El umbral se define claramente utilizando variedades ejemplo. Es previsible que esta práctica se sustituya ulteriormente por una descripción más precisa de los distintos niveles de resistencia. Dichos niveles han de definirse con precisión, debiendo incluirse en las pruebas elementos normalizados que permitan la diferenciación entre distintos niveles.~~

2.2.4 *Pueda definirse y reconocerse con precisión (véase el cuadro 1 d))*

2.2.4.1 La propia definición de la enfermedad no genera problemas, pues para la denominación correcta de la misma pueden utilizarse normas internacionalmente aceptadas, como las de la Sociedad Americana de Fitopatología (APS, *American Phytopathological Society*) para hongos y bacterias y las del Comité Internacional para la Taxonomía de los Virus (ICTV, *International Committee for Taxonomy of Viruses*).

2.2.4.2 La definición y denominación de razas y cepas por enfermedad plantea un problema específico, más complejo, debido a que apenas hay estudios científicos sobre esta materia. Esto puede dar lugar a situaciones confusas en las que una misma raza o cepa pueda recibir denominaciones distintas en Europa o en los Estados Unidos de América, por ejemplo, *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* (Fol) para el tomate cuya raza 1 en los EE.UU. es idéntica a la raza 0 en Europa. Asimismo, razas o cepas distintas pueden denominarse de la misma forma, por ejemplo, *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* (Fol) para el tomate cuya raza 2 en los EE.UU. es diferente de la raza 2 en Europa. Actualmente, la ISF está haciendo un esfuerzo colectivo sobre este asunto con el objetivo de crear un sistema claro de definiciones y denominaciones. El aspecto central de este sistema es la definición precisa de un conjunto de líneas o variedades diferenciales básicas mediante las cuales las razas o cepas puedan determinarse inequívocamente. La industria de las semillas desea colaborar manteniendo las reservas necesarias de semillas para este fin.

2.2.4.3 En la Sección 2.3 [ref.cruzada] se presenta la definición de varios términos desarrollados y utilizados por la ISF. Estas definiciones también pueden consultarse en el sitio web de la ISF (véase <http://www.worldseed.org/phytosanitary.htm>).^h

2.2.4.4 Según las explicaciones que se proporcionan en los protocolos de ensayo, los *ring tests* han producido desviaciones en los resultados. El origen de dichas desviaciones está en la variación de las condiciones climáticas durante la realización de los ensayos. Asimismo, se ha comprobado que distintos observadores han dado interpretaciones diferentes a los mismos síntomas observados. La conclusión que se extrae de estos ensayos es que solo se conseguirá armonizar las observaciones y la evaluación de los resultados si en los ensayos se introducen elementos normalizados. No obstante, se ha observado que pequeñas diferencias entre las normas aplicadas (entre las muchas diferencias posibles) pueden generar problemas. En consecuencia, se recomienda que, para evitar dichos problemas, se desarrolle un conjunto unificado de normas para cada enfermedad o cada cepa. La industria de las semillas desea contribuir manteniendo las reservas necesarias de semillas para este fin.

2.2.5 *Permita que se cumplan los requisitos de homogeneidad (véase el cuadro 1 e))*

El examen de los caracteres de resistencia a las enfermedades implica introducir variables adicionales en los ensayos; no solo el entorno influye en el desarrollo de variedades vegetales, sino que la calidad del inóculo, la inoculación y la interacción entre síntomas y desarrollo del vegetal pueden introducir variaciones en los ensayos. Ha de evitarse que la heterogeneidad introducida en los ensayos se deba a la variedad vegetal candidata.

2.2.6 *Otros aspectos que deben tenerse en cuenta*

También son aspectos que han de considerarse adicionalmente los siguientes:

- i) la disponibilidad de un inóculo fiable y de conjuntos diferenciales de huéspedes

En general, existen unos pocos institutos que aún mantienen reservas de inóculo de la mayoría de las enfermedades utilizadas en programas de fitomejoramiento. En la explicación de los métodos incluidos en las directrices ha de indicarse la información disponible sobre dichas fuentes. Si se utiliza inóculo procedente de alguna otra fuente, debe utilizarse un conjunto definido de huéspedes diferenciales para identificar claramente el inóculo.

- ii) la regulación de la cuarentena

En una organización mundial como es la UPOV es inevitable que enfermedades que son importantes en determinadas zonas no se identifiquen como tales en otras partes del mundo y sean allí consideradas como enfermedades sujetas a cuarentena. Normalmente ello implica que no es posible la importación del inóculo y la realización de ensayos. Una forma de solucionar este problema es solicitar la realización del examen DHE a una autoridad con sede en cualquier otro lugar y con capacidad para llevarlo a cabo.

- iii) los costes de los ensayos de resistencia a las enfermedades

Los costes y requisitos técnicos para la realización de ensayos de enfermedades constituyen barreras infranqueables para algunas autoridades responsables de los exámenes DHE. Para solucionar este problema pueden considerarse dos alternativas:

- puede solicitarse a otra autoridad responsable de realizar exámenes DHE que haga el examen o exámenes de la enfermedad;

- puede solicitarse al solicitante / obtentor que realice un ensayo a ciegas de la enfermedad utilizando muestras codificadas que incluyan las variedades candidatas y un número de muestras de control codificadas a modo de controles de susceptibilidad y resistencia, con un sistema eficaz de control.

2.2.7 Información que ha de proporcionarse en las Directrices de Examen

A fin de tener en cuenta las consideraciones anteriores, la explicación de los caracteres de resistencia a la enfermedad incluidos en las directrices ha de ampliarse con la información necesaria sobre:

- la dirección o direcciones en las que puede obtenerse el inóculo;
- el conjunto diferencial de huéspedes de variedades / líneas que se van a utilizar para verificar la corrección del inóculo en relación con las razas o cepas empleadas;
- la dirección o direcciones en las que puede obtenerse el conjunto diferencial;
- las variedades normalizadas de razas o cepas específicas que deben incluirse en el ensayo;
- la dirección o direcciones en las que puede obtenerse el conjunto de variedades normalizadas.

2.3 Términos que describen la reacción de las plantas a las plagas, agentes patógenos o al estrés abiótico¹—Terminología de la resistencia a las enfermedades (Definición de los términos que describen la reacción de las plantas a plagas u otros agentes patógenos y al estrés abiótico)

2.3.1 *Preámbulo*

Existen distintos grados de especificidad en las relaciones entre vegetales y plagas o agentes patógenos. Por lo general, para identificar dicha especificidad es necesario utilizar métodos analíticos muy sofisticados. La determinación de si un vegetal es atacado por una plaga o un agente patógeno puede depender del método analítico empleado. Es importante señalar que, en general, la especificidad de plagas o de agentes patógenos puede variar en función del tiempo y lugar, así como de factores medioambientales, y que pueden aparecer nuevos biotipos de plagas o razas de agentes patógenos capaces de superar la resistencia.

2.3.2 *Definiciones^l*

Las siguientes definiciones se establecen a los efectos del examen DHE:^k

2.3.2.1 Factores bióticos (plagas o agentes patógenos)

Inmunidad, no sufre infección por una plaga o agente patógeno determinado.

Resistencia, es la capacidad de una variedad vegetal de restringir el crecimiento y desarrollo de una plaga o agente patógeno específico y/o el daño que éstos puedan causar en comparación con variedades vegetales susceptibles de sufrirlas en similares condiciones medioambientales y de intensidad de plaga o de elementos patógenos. Las variedades resistentes pueden mostrar algunos síntomas de la enfermedad o algunos daños en condiciones de intensa presencia de plaga o del agente patógeno.

Susceptibilidad, es la incapacidad de una variedad vegetal de restringir el crecimiento y desarrollo de una plaga o agente patógeno específico.

~~En la sección de hortalizas de la ISF se recomienda que sus miembros utilicen, en relación con el estrés biótico, los términos de inmunidad, resistencia alta/normal o moderada/intermedia y susceptibilidad, evitando el término tolerancia en las comunicaciones con sus clientes.~~¹

2.3.2.2 Factores abióticos (por ejemplo, productos químicos, temperatura)

~~Tolerancia~~, es la capacidad que tiene una variedad vegetal de soportar el estrés abiótico sin que se produzcan consecuencias importantes para el crecimiento, aspecto y rendimiento. Las empresas de hortalizas continuarán utilizando la tolerancia para el estrés abiótico. es la capacidad de una variedad vegetal de soportar el estrés biótico (con inclusión de enfermedades) o el estrés abiótico, sin que se produzcan consecuencias importantes en el crecimiento, aspecto y rendimiento.^m

Sensibilidad, es la incapacidad de una variedad vegetal de soportar estrés biótico (con inclusión de enfermedades) o estrés abiótico sin que se produzcan consecuencias importantes en el crecimiento, aspecto o rendimiento.ⁿ

2.4 Desarrollo de caracteres de resistencia a las enfermedades

En general, los caracteres de resistencia a las enfermedades son caracteres cualitativos o cuantitativos:

2.4.1 *Caracteres cualitativos*

Las resistencias a las enfermedades que se expresan en términos de ausente o presente, en los casos en que dichos niveles de expresión son discontinuos, constituyen caracteres cualitativos.

Ejemplo

	English	français	Deutsch	español	Variedades ejemplo	Nota
39.	Resistance to	Résistance au	Resistenz gegen	Resistencia al		
(+)	downy mildew	mildiou	Falschen	mildiú		
	(<i>Bremia</i>	(<i>Bremia</i>	Mehltau	(<i>Bremia</i>		
	<i>lactucae</i>)	<i>lactucae</i>)	(<i>Bremia</i>	<i>lactucae</i>)		
39.1	Isolate BI 2	Isolat BI 2	Isolat BI 2	Aislado BI 2		
QL	absent	absente	fehlend	ausente	[...]	1
	present	présente	vorhanden	presente	[...]	9

2.4.2 Caracteres cuantitativos

2.4.2.1 Las resistencias a enfermedades que presentan una gradación continua de niveles de susceptibilidad / resistencia en las variedades constituyen caracteres cuantitativos. En general, no es posible definir los nueve niveles de resistencia que serían necesarios para la aplicación de la escala estándar de “1 a 9”. Y, así, la escala condensada de “1 a 3” podría resultar el modo más adecuado de presentar tales caracteres.

Ejemplo

	English	français	Deutsch	español	Variedades ejemplo	Nota
70. VG (+)	Resistance to <i>Sphaerotheca fuliginea</i> (<i>Podosphaera xanthii</i>) (Powdery mildew)	Résistance à <i>Sphaerotheca fuliginea</i> (<i>Podosphaera xanthii</i>) (oïdium)	Resistenz gegen <i>Sphaerotheca fuliginea</i> (<i>Podosphaera xanthii</i>) (Echter Mehltau)	Resistencia a <i>Sphaerotheca fuliginea</i> (<i>Podosphaera xanthii</i>) (Oidio)		
70.1	Race 1	Pathotype 1	Pathotyp 1	Raza 1		
QN	susceptible	sensible	anfällig	susceptible	[...]	1
	moderately resistant	moyennement résistant	mäßig resistent	moderadamente resistente	[...]	2
	highly resistant	hautement résistant	hochresistent	altamente resistente	[...]	3

2.4.2.2 En la escala de “1 a 3” cabe comprobar que, en el caso de las variedades de multiplicación vegetativa o variedades autógamias (véase el documento TGP/9, Secciones 5.2.3.9 a 15 [ref. cruzada]), una diferencia de dos notas es una base adecuada para el examen de la distinción, cuando la comparación entre dos variedades se hace a partir de las notas obtenidas en el ensayo en cultivo. Si la diferencia es únicamente de una nota, ambas variedades podrían estar muy cerca de la misma divisoria (por ejemplo, el extremo superior de la nota 2 y el extremo inferior de la nota 3) y la diferencia podría no ser clara. En tal caso, solo se considerarán distintos, a partir de las notas, los pares de variedades que sean susceptibles (nota 1) y altamente resistentes (nota 3).⁹

3. P Resistencia a los insectos

3.1 Introducción

3.1.1 Entre los caracteres que pueden utilizarse para establecer la distinción de una determinada variedad, se encuentran los que son el resultado de la interacción entre dos organismos vivos, a saber, la variedad vegetal en cuestión y un hongo, una bacteria, un virus o un insecto (que en lo sucesivo en este documento se denomina LO, *living organism*).

3.1.2 En tales casos, han de considerarse determinadas condiciones específicas debido a los diversos LO que pueden interactuar con la variedad vegetal.

3.1.3 En comparación con los factores climáticos o del suelo, existen fuentes adicionales de variación que pueden alterar el efecto del LO sobre la variedad vegetal:

- el efecto de factores tales como la temperatura, humedad relativa y luz en el desarrollo de la agresividad del LO;
- la variabilidad genética del LO (diferentes razas o cepas).

3.1.4 Debido a dichas fuentes de variación, los protocolos utilizados para obtener la descripción de la variedad vegetal candidata, o para comparar variedades similares, deben establecerse con la debida atención a las mencionadas fuentes de variación.

3.1.5 Han de considerarse diferentes situaciones. Se^q describe, a modo de ejemplo, la resistencia a un insecto por modificación genética de variedades del maíz.

3.2 Ejemplo: resistencia al barrenador del maíz de variedades de maíz GM^r

3.2.1 Métodos

El siguiente ejemplo se refiere a un procedimiento para lograr la resistencia al barrenador del maíz de variedades de maíz en el que la resistencia se ha introducido por modificación genética. El procedimiento conlleva el método del ensayo biológico. La UPOV ha considerado también la posibilidad de utilizar marcadores moleculares genético-específicos como predictores de caracteres tradicionales a fin de evitar el examen, en el terreno de cultivo, de caracteres cuya observación, en tal caso, podría resultar difícil o cara. En los documentos TC/38/14-CAJ/45/5 y TC/38/14 Add.-CAJ/45/5 Add. se establece la posición de la UPOV relativa al uso de este método, conocido como Opción 1 a). En dichos documentos se aclara que hay una serie de premisas que deben verificarse antes de utilizar este método, entre ellas, que exista un vínculo fiable entre cualquier marcador genético específico y la expresión de la resistencia al barrenador del maíz [y que genes distintos den lugar a expresiones genotípicas diferentes].^s

~~El procedimiento puede incluir dos partes:~~

- ~~a) verificación de la expresión del transgen: ensayo biológico;~~
- ~~b) verificación de la presencia del transgen.~~

~~La estrategia para aplicar estas dos pruebas puede ser la siguiente:~~

~~3.2.1 Verificación de la expresión del transgen: ensayo biológico~~

~~3.2.1.1 La expresión del transgen se observa directamente en un ensayo en el que la planta y el insecto interactúan, utilizando hojas jóvenes de la planta y larvas de barrenador del maíz. El protocolo se describe en la sección 3.2.3 [ref. cruzada].~~

~~3.2.1.2 Este ensayo funciona bien y permite evaluar la eficiencia de la transformación genética. En comparación con el ensayo PCR o el ensayo Elisa, que solo revelan la presencia de la proteína, el ensayo biológico permite obtener información del verdadero efecto sobre el insecto.~~

~~3.2.1.3 La experiencia actual es que los transgenes que han sido desarrollados hasta ahora son eficaces cualquiera que sea el origen del barrenador del maíz.~~

~~3.2.2 Verificación de la presencia del transgen~~

~~3.2.2.1 Cuando se ha recopilado información suficiente sobre un evento transgénico dado¹ y si no se ha observado efecto alguno sobre la expresión del transgen por la interacción entre éste y la estructura genética de la planta, el ensayo de verificación de la resistencia al barrenador del maíz puede realizarse utilizando la técnica PCR.~~

~~3.2.2.2 Se asume que está disponible una sonda específica² que permite reconocer el evento transgénico.~~

~~3.2.2.3 Cada vez que se desarrolla un transgen, ha de verificarse su expresión en diferentes contextos genéticos antes de basarse exclusivamente en la técnica PCR para evaluar el carácter.~~

~~3.2.2.4 También es importante clarificar que cualquiera que sea el transgen o evento transgénico utilizado, solo se considera un carácter para establecer la distinción: la resistencia al barrenador del maíz. Ello significa que la distinción no ha de basarse en diferencias entre transgenes o eventos transgénicos con la misma expresión.~~

~~3.2.2 Protocolo del ensayo biológico para verificar la resistencia al barrenador del maíz (Ostrinia Nubilalis Hübner) de las variedades de maíz GM~~

~~3.2.2.1 El protocolo es el siguiente:~~

- ~~- Plantas en crecimiento con 8 a 10 hojas~~
- ~~- Larvas en el estado L1 (primer estado de desarrollo)~~

~~a) Las hojas se seleccionan para cada tipo de planta de entre diez plantas de cada variedad;~~

¹ ~~Evento transgénico = transgen transferido a un determinado lugar del genoma de la planta mediante la técnica adecuada~~

² ~~Sonda específica significa una sonda en la que la identidad del evento transgénico (el transgen y su ubicación en el genoma) puede determinarse con precisión.~~

b) Las hojas de cada planta se distribuyen en 5 cajas de plástico herméticas de 45 mm de diámetro en las que se ha colocado un disco de papel de filtro mojado;

c) En cada caja se introducen seis larvas; en total, se utilizan 50 cajas y 300 larvas por cada variedad;

d) En cada ensayo biológico se incluye siempre una variedad susceptible.

3.2.2.2 Condiciones y observaciones:

e) Las cajas se ubican durante 4 días en cámaras a 25°C con una fotofase 16 : 8 (16 horas de luz y 8 horas de oscuridad) con un nivel de humedad de saturación;

f) Tras 4 días de exposición se registra la mortalidad, y al quinto día se contabilizan las larvas supervivientes.

3.2.2.3 Expresión de los resultados:

g) El criterio para evaluar la resistencia es la tasa de mortalidad de las larvas;

h) El número total de larvas muertas por planta se registra como un porcentaje;

i) Se calcula el porcentaje medio y la desviación típica de cada variedad.

4. ^P **Reacción a tratamientos químicos**

4.1 Introducción

El crecimiento de las plantas puede verse afectado significativamente por diversos compuestos químicos que, aplicados sobre ellas, pueden afectar a caracteres relativos a la fenología, fisiología y a caracteres fenotípicos. En estos grupos se incluyen herbicidas, reguladores de crecimiento de las plantas, defoliantes, compuestos enraizantes y compuestos utilizados en los medios para el cultivo de tejidos. En esta Sección se examinan algunos ejemplos de los efectos que producen en las plantas los herbicidas y los reguladores de crecimiento de las plantas y del uso de dichas reacciones como caracteres en el examen DHE.

4.2 Herbicidas

4.2.1 *Variedades tolerantes a herbicidas*

4.2.1.1 La obtención de variedades resistentes o tolerantes a herbicidas^u es actualmente algo común. Cuando dichas variedades se tratan con un herbicida, su nivel de “tolerancia” se manifiesta mediante una o varias expresiones fenotípicas. Estos caracteres pueden ser útiles para evaluar la distinción, siempre que se cumplan los requisitos establecidos para el carácter que se va a utilizar en el examen DHE (TG/1/3 sección 4.2).

4.2.1.2 La tolerancia a los herbicidas puede ser un carácter inherente de una variedad vegetal o puede introducirse mediante la obtención convencional de variedades vegetales, mutaciones o modificaciones genéticas. Por ejemplo, algunas herbáceas son inherentemente tolerantes al 2,4-D (2-4 ácido fenilacético) y otras desarrollan imitaciones de hormonas. La selección en esta especie ha generado variedades tolerantes. Por el contrario, puede haber otros cultivos que no tengan tolerancia natural, ni siquiera en niveles muy bajos, por lo que es necesario recurrir a la modificación genética para introducir la tolerancia a los herbicidas (por ejemplo, *phosphinothricin* o glifosato)

4.2.2 *Estudio de caso sobre la utilización de herbicidas en la expresión de caracteres de variedades vegetales y en la evaluación de la distinción*

4.2.2.1 La resistencia al glifosato en variedades de algodón genéticamente modificadas puede utilizarse como un estudio de caso del modo en el que los caracteres morfológicos expresados como reacción a un compuesto químico específico se utilizan para evaluar la distinción.

4.2.2.2 Se ha informado (ensayos PBR en Australia, 2000-2004) de que ciertos caracteres fenotípicos con niveles de expresión diferentes se hacen evidentes cuando las distintas variedades de algodón se tratan con concentraciones comerciales de glifosatos. En el cuadro 2 se ofrece un ejemplo de “carácter adicional”³ (muerte de la planta) desarrollado especialmente en el algodón como reacción a la aplicación de glifosato: ^v

³ Estos caracteres son adicionales a los “caracteres estándar” que figuran en las Directrices de Examen de la UPOV para una especie determinada y se desarrollan habitualmente en circunstancias particulares.

Cuadro 2: Ejemplo de la reacción en el algodón a la aplicación de glifosato y el uso de una reacción (muerte de la planta) como carácter ^v

Reacción al herbicida	Efectos	
Plegado de hoja joven	efecto muy bajo efecto bajo efecto medio efecto alto	
Manchas en las hojas	efecto muy alto efecto muy bajo efecto bajo efecto medio efecto alto	
Clorosis terminal	efecto muy alto efecto muy bajo efecto bajo efecto medio efecto alto	
Marchitamiento de la planta	efecto muy alto efecto muy bajo efecto bajo efecto medio efecto alto	
*Muerte de la planta	efecto muy alto ausente presente	Nota 1 Nota 9

Nota: Las puntuaciones relativas a manchas en las hojas, clorosis terminal y marchitamiento de la planta se hacen 3 y 7 días después del tratamiento. Las puntuaciones relativas a plegado de hoja joven se hacen 7 días después del tratamiento herbicida. Las puntuaciones relativas a muerte de la planta se evalúan 14 días después de la pulverización.

* Carácter adicional del examen DHE.

4.2.2.3 En el cuadro 3 se muestran datos sobre **la reacción** de plantas inducidas por herbicidas procedentes de un ensayo con algodón pulverizado con glifosato realizado en Australia (utilizando los caracteres adicionales que figuran en el cuadro 2).

Cuadro 3: Comparación de la tolerancia al glisofato de variedades de algodón ^v

EFECTO DEL HERBICIDA	Variedad		
	‘NuPearl RR’	‘DP 5690 RRi’	‘DeltaPEARL’
PLEGADO DE HOJA JOVEN			
* media DAS 7	muy bajo	muy bajo	medio a muy alto
MANCHA DE HOJAS			
media DAS 3	muy bajo	muy bajo	medio
media DAS 7	muy bajo a bajo	muy bajo a bajo	alto a muy alto
CLOROSIS TERMINAL			
media DAS 3	muy bajo	muy bajo	muy bajo
media DAS 7	muy bajo	muy bajo	medio
MARCHITAMIENTO DE LA PLANTA			
media DAS 3	muy bajo	muy bajo	muy bajo a bajo
media DAS 7	muy bajo	muy bajo	medio
MUERTE DE LA PLANTA			
media DAS 14	Nota 1	Nota 1	Nota 9
	(plantas vivas)	(plantas vivas)	(plantas muertas)

* DAS: días tras la pulverización; la puntuación se hizo 3, 7 y 14 días después de la aplicación del herbicida (por ejemplo, DAS 7 significa 7 días después de la pulverización).

4.2.2.4 Los datos anteriores muestran que, tras el tratamiento con glifosato, las diferencias entre las variedades tolerantes y sensibles^u se hicieron evidentes en una semana respecto a todos los caracteres mencionados. Tanto la variedad ‘NuPearl RR’ como la variedad ‘DP 5690 RRi’ resultaron ser tolerantes al glifosato, cuyo efecto fue muy reducido, mientras que la variedad ‘DeltaPEARL’ resultó ser completamente sensible^u y murió 14 días después del tratamiento. Sin la utilización del carácter adicional “muerte de la planta”^v sería difícil distinguir entre las variedades mencionadas, ya que son prácticamente indistinguibles desde el punto de vista de su morfología.

4.3 Reguladores de crecimiento de las plantas

4.3.1 Los productos químicos que actúan como reguladores del crecimiento tienen a menudo similitudes estructurales con las hormonas de las plantas. Sin embargo, la diferencia básica entre ellos es que los reguladores del crecimiento son exógenos (no se producen en la planta), mientras que las hormonas se producen en la propia planta *per se*, como parte del proceso biológico.

4.3.2 Los reguladores de crecimiento de las plantas se utilizan normalmente para controlar la altura de la planta, las ramificaciones laterales, la floración, etc. Los reguladores de crecimiento (por ejemplo, los retardadores del crecimiento) pueden modificar al mismo tiempo varios caracteres de las plantas y alterar significativamente el fenotipo de una variedad vegetal, como ocurre, por ejemplo, con la utilización del ácido giberélico (GA₃) en la producción de uvas “Thompson Seedless”. Esta uva sin semilla se utiliza mucho como uva de mesa de clase superior. La “Thompson Seedless” es el resultado del tratamiento con GA₃ de la variedad de uva original denominada “Sultana” (o “Sultania”), muy común en el mercado de frutos secos en forma de uva pasa. Sin embargo, cuando la variedad “Sultania” se trata con GA₃ (20-40 ppm) en una fase temprana del desarrollo de la fruta, la fruta resultante tiende a

alargarse y a aumentar de tamaño, comercializándose entonces el producto de la variedad “Sultana” como la uva de mesa “Thompson Seedless”.^w

4.3.3 Si se cumplen los requisitos establecidos en las Secciones 1.2 y 1.3, podría utilizarse, en determinadas circunstancias, la reacción a los reguladores de crecimiento de las plantas como carácter en el examen DHE. No obstante, cuando este factor no se destina al examen DHE, puede ser difícil garantizar que su influencia en un ensayo no distorsione el examen DHE (véase la Sección 1.1). En concreto, resultaría difícil garantizar que el regulador del crecimiento de la planta tiene el “mismo efecto” en todas las variedades utilizadas en el ensayo DHE, entre ellas las variedades bien conocidas. Además, como estos reguladores pueden tener efectos difíciles de percibir en una gama de caracteres de plantas, conviene actuar con especial cautela para evitar que se altere la descripción de los “caracteres estándar” de las Directrices de Examen.

SECCIÓN II: COMPONENTES QUÍMICOS: ELECTROFORESIS DE PROTEÍNAS

1. En la Introducción General (Sección 4.6.2) se afirma que “[p]odrán aceptarse los caracteres basados en componentes químicos, siempre y cuando satisfagan los criterios que se especifican en la Sección 4.2. Es importante que esos caracteres estén bien definidos y que se establezca un método adecuado para el examen. En el documento TGP/12, “Caracteres especiales”, pueden hallarse más detalles al respecto”.
2. En cuanto a los caracteres de proteínas obtenidos mediante electroforesis, la UPOV ha decidido publicarlos en un anexo a las Directrices de Examen, creando de este modo una categoría especial de caracteres, puesto que la mayoría de los miembros de la Unión opina que no es posible establecer la distinción únicamente sobre la base de la diferencia hallada en un carácter obtenido mediante electroforesis. Por consiguiente, se deberán emplear esos caracteres solamente como complemento de otras diferencias en caracteres morfológicos o fisiológicos. La UPOV confirma que esos caracteres se consideran útiles pero que, aisladamente, no pueden ser suficientes para establecer la distinción. No se deben emplear como caracteres de manera sistemática, sino a petición del solicitante de la variedad objeto de la solicitud o una vez obtenido su acuerdo.
3. Para que los caracteres de proteínas obtenidos mediante electroforesis sean incluidos en un anexo a las Directrices de Examen, es necesario:
 - a) establecer el control genético de la proteína o proteínas en cuestión; y
 - b) especificar un método apropiado para el examen.

SECCIÓN III: EXAMEN DE CARACTERES COMBINADOS MEDIANTE EL ANÁLISIS DE LA IMAGEN

1. En la Introducción General (documento TG/1/3, Capítulo 4, Sección 4) se establece que:

“4.6.3 Caracteres combinados

4.6.3.1 El carácter combinado es una simple combinación de un pequeño número de caracteres. Siempre que la combinación tenga sentido desde el punto de vista biológico, podrán combinarse posteriormente los caracteres observados por separado, por ejemplo, el índice de longitud y de anchura, a fin de producir dicho carácter combinado. Los caracteres combinados deben ser examinados a los fines de la distinción, la homogeneidad y la estabilidad en la misma medida que los demás caracteres. En algunos casos, estos caracteres combinados se examinan por medio de técnicas como la del análisis de imagen. Para estos casos, los métodos apropiados de examen DHE se especifican en el documento TGP/12, “Caracteres especiales”.”

2. Así, en la Introducción General se aclara que el análisis de la imagen es uno de los métodos posibles para examinar los caracteres que satisfacen los requisitos básicos de utilización en el examen DHE (véase el documento TG/1/3, Capítulo 4.2), entre los cuales está la necesidad de homogeneidad y estabilidad de tales caracteres. Por lo que respecta a los caracteres combinados, en la Introducción General se explica también que dicha combinación deberá ser biológicamente pertinente.

3. Los caracteres que puedan examinarse mediante el análisis de la imagen también podrán examinarse, cuando proceda, mediante observación visual y/o medición manual. Las explicaciones concernientes a la observación de tales caracteres, sin olvidar las explicaciones específicas de las Directrices de Examen, deben redactarse de modo que los caracteres sean comprendidos y puedan ser examinados por todos los expertos en el examen DHE.

Notas

^a El TWO señaló que el documento se basa en ejemplos y solo se proporcionan recomendaciones generales en la Sección 1. Así, consideró que es necesario ampliar tales recomendaciones y aclarar que los ejemplos no constituyen una lista de caracteres especiales.

^b Texto propuesto por el Sr. Kees van Ettehoven (Países Bajos), autor de la sección relativa a la resistencia a los insectos.

^c Se propuso suprimir el término “tolerante”, pero se consideró que es necesario para referirse a la tolerancia a los herbicidas (Sección 4).

^d Texto propuesto por el TWV, con arreglo a la modificación del Sr. van Ettehoven.

^e Supresión propuesta por el TWA.

^f El texto se ha modificado como consecuencia de la supresión del párrafo anterior.

^g El TWA propuso examinar el párrafo de modo que en su formulación quede reflejado el hecho de que se aceptan los caracteres cuantitativos, como se muestra en el párrafo 2.4.2.

^h El TWA propuso que esta referencia figure en un anexo en que se mencione el sitio web de la ISF.

ⁱ El título de la Sección 2.3 se ha modificado con arreglo al cambio propuesto para la definición de “tolerancia”.

^j El TC propuso que las definiciones que figuran en la Sección 2.3.2 se comparen con las definiciones adoptadas previamente por el TC, las cuales se presentan a continuación (véase el párrafo 17 i) del documento TC/32/7):

“Definición de los términos que describen la reacción de las plantas a plagas y agentes patógenos

- Las definiciones que figuran a continuación se refieren exclusivamente a pares específicos parásito-huésped entre los cuales existe compatibilidad. No explican el no reconocimiento entre parejas prácticamente incompatibles.
- En las relaciones entre el parásito y el huésped existen distintos grados de especificidad. Para identificar dicha especificidad es en general necesario utilizar métodos analíticos muy sofisticados.
- La determinación de si un vegetal es atacado o no por parásitos puede depender del método analítico empleado.
- Es importante señalar que, en general, la especificidad de plagas o de agentes patógenos puede estar en función del tiempo y lugar y que pueden aparecer nuevas razas de agentes o nuevos patógenos biotipos de plagas capaces de superar la resistencia.

“La UPOV ha adoptado la siguiente terminología:

Resistencia: Capacidad de una variedad o una población monoespecífica de limitar las actividades de una determinada plaga o agente patógeno en toda o en una parte del ciclo de cultivo. Por lo general, pueden determinarse varios niveles de resistencia.

Susceptibilidad: La susceptibilidad corresponde al nivel cero de resistencia de una variedad o población en lo que respecta a una plaga o agentes patógenos determinados.

Tolerancia: Capacidad de una variedad o población de tolerar el desarrollo de una plaga o agente patógeno al tiempo que presenta desórdenes que no tienen consecuencias importantes en su crecimiento, aspecto y rendimiento.”

El Sr. Kees van Ettehoven, autor de la Sección sobre resistencia a las enfermedades, señaló que “el término de tolerancia es particularmente difícil de definir en los ensayos DHE. Como, además, en la práctica, el uso de dicho término da lugar a problemas de interpretación, se propone que, en este documento se acepte la terminología que figura en la Sección 2.3.2 a efectos del examen DHE. Más adelante se señala el uso adecuado de los niveles de expresión.

^k El TWA propuso aclarar que estas definiciones se establecen únicamente en el ámbito de los objetivos de la UPOV.

^l El TWV propuso que se suprimiera el párrafo que precede al párrafo sobre la tolerancia.

^m Formulación enmendada por propuesta del TWV con arreglo a la modificación del Sr. van Ettehoven.

ⁿ El TWA propuso explicar que el término “sensibilidad” se opone al término “tolerancia”.

Notas (continuación)

^o El TWA propuso hacer referencia al requisito general relativo a la diferencia de dos notas en los caracteres cuantitativos para el establecimiento de la distinción, como figura en el documento TGP/9; esto es, aclarar que solo se considerarán distintos, a partir de las notas, los pares de variedades que son susceptibles (nota 1) y altamente resistentes (nota 3).

^p El TWA propuso que la Sección “Resistencia a los insectos” preceda a la sección “Reacción a tratamientos químicos”, dado que en las nuevas Secciones 2 y 3 se abordará la cuestión de la resistencia y en la Sección 4 se tratará la tolerancia.

^q Supresión de “en este primer proyecto de documento”.

^r El TWA propuso suprimir la referencia a “GM” en el título de esta sección y ofrecer, en la introducción, una breve explicación sobre el desarrollo de la resistencia al barrenador del maíz mediante la modificación genética.

^s El TWA propuso que se supriman los párrafos siguientes al 4.2.3 y se sustituyan por una referencia a la posición de la UPOV relativa al uso de técnicas moleculares, como se establece en los documentos TC/38/14-CAJ/45/5 y TC/38/14 Add.-CAJ/45/5 Add., en la que se explique concretamente que solo se ha elaborado un método del ensayo biológico y que para aplicar el método de la Opción 1 a) es necesario establecer un vínculo entre la presencia del transgen y la expresión de la resistencia al barrenador del maíz.

^t El TWA propuso que se supriman los párrafos siguientes al 4.2.3 y se sustituyan por una referencia a la posición de la UPOV relativa al uso de técnicas moleculares, como se establece en los documentos TC/38/14-CAJ/45/5 y TC/38/14 Add.-CAJ/45/5 Add., en la que se explique concretamente que solo se ha elaborado un método del ensayo biológico y que para aplicar el método de la Opción 1 a) es necesario establecer un vínculo entre la presencia del transgen y la expresión de la resistencia al barrenador del maíz.

^u En lo que respecta a los efectos de los herbicidas, el TWA propuso sustituir el término “resistente” por “tolerante” y el término “susceptible” por “sensible”.

^v El TWA propuso suprimir la atribución de notas a los efectos de los herbicidas, exceptuando los casos relativos a la muerte de la planta; propuso también aclarar que solo se están utilizando los efectos de muerte de la planta como caracteres en el examen DHE.

^w El TWA propuso reformular el párrafo para aclarar que el término “Thompson Seedless” se refiere a la fruta obtenida de la variedad “Sultana”. De la actual formulación se desprende que, mediante el uso de reguladores de crecimiento, podrían registrarse dos variedades cuando en realidad se trata solamente de una.

[Fin del documento]